

尿嘧啶 DNA 糖基化酶

Uracil-DNA Glycosylase(UNG 酶)

一、产品规格

100u1 1U/u1

-20℃保存

二、产品简介

尿嘧啶 DNA 糖基酶 (UDG) 来源于大肠杆菌重组克隆表达。该酶分子量为 25KDa，它催化含尿嘧啶的单链和双链 DNA 释放游离尿嘧啶，它对 RNA 无活性。主要应用于 PCR 扩增产物的防污染。它的作用原理基于：在 PCR 反应中以 dUTP 替代 dTTP 掺入 DNA 中，形成了含 dU 碱基的 PCR 扩增产物，Uracil-DNA Glycosylase 能选择性断裂单链和双链 DNA 中 U 碱基的糖苷键，降解 PCR 扩增产物。

三、单位定义

37°C-50°C，1 小时，可降解 1mg 含 dU 碱基的单链 DNA 的酶量为 1 单位。

四、酶储存缓冲液

50% glycerol, 30mM Tris-HCl (pH 7.5), 150mM NaCl, 1mM EDTA, 1mM DTT, 0.05% Tween 20。

五、反应缓冲液

10 x Reaction Buffer : 100mM NaCl, 200mM Tris-HCl (pH8.0), 10mM EDTA, 1mg/ml BSA。

六、使用介绍

- 1、Taq 酶与 UNG 酶的反应缓冲液和酶储存液可以通用。
- 2、通常将 Taq 酶与 UNG 酶按一定的比例加入 PCR 反应体系中，先 37°C-50°C 2 分钟，进行 dUTP 的消化 (60度灭活)，然后 94°C 4 分钟灭活，(同时这一步也达到预变性的效果)，随后做 PCR 扩增。
- 3、PCR 反应体系配制示例

反应液组份	加量 (μl)	终浓度	备注
10×PCR buffer	5	1×	
上游引物	5	50~900nM	
下游引物	5	50~900nM	
dATP (10mM)	1	200uM	
dGTP (10mM)	1	200uM	
dCTP (10mM)	1	200uM	
dTTP (10mM)	0.5	100uM	
dUTP (10mM)	1	200uM	如果用全U则,终浓度为400uM
Mg ²⁺ (25mM)	3	1.5mM	
Taq 酶 (5U/ul)	0.5		
UNG 酶 (1U/ul)	0.5		如果污染严重,可适当增加用量
模板	5		
ddH ₂ O	21.5		
总体积	50		

4、反应条件：37℃-50℃ 2分钟，94℃4分钟，然后94℃30秒→55℃30秒→72℃60秒40个循环，最后72℃5分钟。

七、质量控制

1. 活性：大于1u/ul。
2. Overdigest (OD) 检测：5单位UDG与1微克λDNA在37℃下反应16小时后，用琼脂糖凝胶电泳未检出降解的λDNA。
3. DNase Assay：5单位UDG与50ng 3H-DNA在37℃下反应4小时，分解出的释放量小于1%。
4. Nickase Assay：5单位UDG与1*g超螺旋DNA在37℃下反应4小时DNA的电泳图谱不发生变化。

八、注意事项

1. 长期储存（非频繁使用；每月1-2次）：-70℃；每天或每周使用：-20℃。尽量避免多次冻融，切勿暴露在温度波动较大之处。这些波动对产品的稳定性有极大影响。
2. UNG可以在PCR反应前先清除不慎污染的U-DNA分子，一个实验室必须在所有的PCR反应中使用dUTP作为dNTPs之一，使所有扩增产物都成为U-DNA。如单使用于某个检测，T-DNA仍会

积累，这个抗污染系统也难以起到完全的作用。

3. UNG/dUTP 系统是 PCR 试剂内部的一种防污染措施，为了防止 PCR 产物的污染，尤其是在临检实验室中反复放大同一片段时，必须严格规范实验室的分划和操作。

4. 如果经过换房间、紫外照射、DNAase 消化等措施后，依然对某个片段存在污染，建议重新设计引物（在不同的扩增区），以错开污染片段。

4. UNG 酶的反应温度可以在 37°C—50°C 的范围内变化，根据实验的需要可以自由调整，60度以上灭活。

其它相关试剂

ZD00105 dUTP 250ul (100mM) ¥250

ZP00103 Taq 酶 1000U



上海闪晶分子生物科技有限公司

地址：上海市闵行区北桥镇吴河路328号A栋2楼

邮编：201109

联系：市场部

电话：54460832 800-988-1995

E-mail:master@shinegene.org.cn

网址：www.shinegene.org.cn

